

論文内容の要旨

論文提出者氏名 松 木 智 宏

論文題目

Expression of connexin 43 in synovial tissue of patients with rheumatoid arthritis

論文内容の要旨

関節リウマチ (rheumatoid arthritis: RA と略) は、難治性の関節疾患であり、滑膜炎と骨破壊を生じる。RA では複数の炎症性サイトカインの発現が病態において重要な役割を担っており、炎症性サイトカインを標的とした生物学的製剤が、治療として広く用いられている。しかし、生物学的製剤には、重篤な感染症、高額な医療費および中和抗体の出現などの問題がある。このため、従来とは異なる機序でも、RA を制御できる新たな治療薬の開発が切望されている。一方、ギャップ結合は、膜貫通型の細胞間結合装置の一つで、connexin (Cx と略) とよばれるタンパクの多量体により形成されている。その中心孔をカルシウムイオンやセカンドメッセンジャーなどが通過することで、隣接する細胞に情報が伝達される。ヒト Cx のアイソフォームは 21 種類あり、その中でも Cx43 が滑膜組織で高発現している。近年、Cx43 はさまざまな組織で免疫応答を調整していることや、Cx43 の発現阻害が炎症反応を抑制できることが明らかにされてきた。これらの報告は、滑膜における Cx43 の発現が RA の病態に関与している可能性を示している。本研究の目的は、ヒト RA 滑膜組織における Cx43 の発現を明らかにし、ヒト RA 滑膜線維芽細胞 (synovial fibroblasts: SFs と略) における Cx43 の発現抑制による炎症性サイトカインに対する影響を検証することである。

対象は、RA 患者 8 例、変形性関節症 (osteoarthritis: OA と略) 患者 5 例、および関節外に生じた骨肉腫患者 1 例とした。それぞれ RA 群、OA 群、および normal 群とし、患者背景を調査した。手術時に採取した滑膜組織における Cx43 および TNF- α の遺伝子発現を解析し、Cx43 の免疫染色で組織学的に検討した。さらに、採取した滑膜組織から RASFs を単離培養し、Cx43 の抑制実験を行った。RASFs に Cx43 に対する small interfering RNA (siCx43 と略) を導入し、炎症性刺激として tumor necrosis factor (TNF と略) - α を添加した。対照細胞には negative control siRNA を導入した。RASFs における Cx43、TNF- α 、および Interleukin (IL と略) -6 の遺伝子発現を real time RT-PCR 法で、培養上清中に分泌されたタンパク量を ELISA 法で測定した。

RA 群における Cx43 の遺伝子発現は、OA 群、normal 群と比較して明らかに高く、TNF- α の遺伝子発現が高い滑膜組織ほど Cx43 の発現も高かった。RA 群におけるすべての滑膜組織で、滑膜細胞は増殖し、炎症性細胞は浸潤していたが、OA 群および normal 群で炎症性細胞をほとんど認めなかった。Cx43 に対する染色性は、RA 群の滑膜表層細胞で高かったが、OA 群およ

び normal 群の滑膜組織において、Cx43 抗体で染色された細胞はほとんどなかった。RA 群の薬歴は、生物学的製剤である tocilizumab (TCZ と略) と methotrexate (MTX と略) の併用が 2 例、MTX とステロイド剤の併用が 3 例、MTX と抗リウマチ薬の併用が 1 例、MTX 単独が 1 例、抗リウマチ薬とステロイド剤の併用が 1 例であった。薬物療法は、Cx43 の発現に明らかな影響を与えなかった。RASFs における Cx43 の発現は、TNF- α を添加した群で有意に亢進した。TNF- α および IL-6 の遺伝子およびタンパクの発現は、siNeg を導入した群に比べて、siCx43 を導入した群で有意に抑制された。

滑膜で発現している Cx は、Cx26、32 および 43 である。Cx43 は、ヒト正常滑膜で最も高発現している。本研究において、Cx43 の遺伝子発現は、OA および正常滑膜組織と比較して RA 滑膜組織で高かった。また、Cx43 の発現は、ヒト RASFs において TNF- α による炎症性刺激で亢進することを明らかにした。さらに、Cx43 は RA 滑膜組織における炎症性細胞の浸潤に伴い高い染色性を示した。以上から、Cx43 の発現は、RA における滑膜炎の病態において重要な役割を果たしている可能性がある。TNF- α や IL-6 などの炎症性サイトカインの発現は、RA の滑膜炎に強く関与している。本研究において、Cx43 の特異的抑制剤が、ヒト RASFs における TNF- α および IL-6 の遺伝子およびタンパク発現を抑制することを示した。Cx43 の発現阻害は、複数の炎症性サイトカインの発現を低下させることで RA の滑膜炎を制御できる可能性がある。また、RA 群における Cx43 の発現は、生物学的製剤である TCZ、MTX、抗リウマチ薬およびステロイド剤によって明らかに影響しなかった。Cx43 の発現は、既存の薬物療法に抵抗する RA における滑膜炎の病勢を反映できる可能性がある。TNF- α の発現が亢進することで、破骨細胞は活性化し、RA の骨破壊は進行する。近年、Cx43 はヒト破骨細胞を活性化させることが明らかにされてきた。本研究において、Cx43 の発現は RA 滑膜組織における TNF α の発現に伴い亢進し、Cx43 の発現阻害が TNF- α の発現を抑制した。Cx43 の発現は、TNF- α 誘導性の骨破壊に関与している可能性がある。

本研究で、Cx43 がヒト RA 滑膜組織で高い発現を示していること、Cx43 の発現阻害によってヒト RASFs における複数の炎症性サイトカインを同時に抑制できることを明らかにした。以上から、Cx43 は、RA の滑膜炎に対する新たな治療標的となる可能性がある。